Journal of Plant Protection
Vol. 34, No. 2, Summer 2020, P. 195-205

نشریه حفاظت گیاهان (علوم و صنایع کشاورزی)
جلد ۳۴، شماره ۲، تابستان ۱۳۹۹، ص. ۲۰۵-۱۹۵

مقاله علمی-پژوهشی

سمیت تنفسی حاد اسانس‌های رزماری و اسطوخودوس و هم‌افزایی آن‌ها روی حشره‌ی کامل سوسک چهارنقطه‌ای حبوبات *Callosobruchus maculatus* (Col.: Chrysomelidae) در شرایط آزمایشگاه

رضا لطیفی‌زاده[۱]- محمد خانجانی[۲*]- بابک ظهیری[۳]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۰۸/۰۳
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۱۲/۰۵

چکیده

سوسک چهارنقطه‌ای حبوبات، *Callosobruchus maculatus* یکی از آفات کلیدی انواع مختلف حبوباتی مانند لوبیا چشم بلبلی، نخود، عدس، ماش و باقلا بوده و می‌تواند خسارت وارد کند. برای کنترل آن در سال‌های اخیر از آفت‌کش‌های سازگار با محیط زیست به ویژه با منشاء گیاهی مورد توجه محققین قرار گرفته است. در این پژوهش سمیت اثرات تنفسی حاد اسانس‌های گیاه رزماری، *Rosmarinus officinalis* L. و اسطوخودوس، *Lavandula angustifolia* Mill و برهم‌کنش آن‌ها روی حشرات کامل سوسک چهارنقطه‌ای حبوبات مورد بررسی قرار گرفت. آزمایش‌های زیست سنجی اسانس‌ها با غلظت‌های ۱۲، ۲۵، ۴۵، ۸۶، ۱۶۶، ۳۲۰ میکرولیتر لیتر هوا روی حشرات کامل ۱ تا ۳ روزه این آفت در دمای ۱ ± ۲۷ درجه سلسیوس، رطوبت نسبی ۵ ± ۶۵ درصد و دوره‌ی نوری ۱۶ ساعت تاریکی و ۸ ساعت روشنایی انجام شد آزمایش‌ها روی مخلوطی از دانه‌های ماش و لوبیا چشم بلبلی درون ظرف‌های شیشه‌ای درب‌دار به حجم ۶۰ میلی‌لیتر، داخل انکوباتور انجام شد. شاخص‌های LC_{50} و LC_{90} اسانس‌ها با نرم‌افزار POLO-PC محاسبه و تجزیه واریانس آن‌ها با نرم‌افزار SAS 9.1 انجام شد و سمیت تنفسی اسانس‌ها مورد ارزیابی قرارگرفت. نتایج نشان داد که رابطه مستقیمی بین غلظت اسانس و درصد مرگ‌ومیر وجود دارد. اسانس رزماری نسبت به اسانس اسطوخودوس دارای سمیت بالاتری بود. مقادیر LC_{50} رزماری و اسطوخودوس به ترتیب ۱۷/۳۹ و ۴۰/۳۹ میکرولیتر بر لیتر هوا بدست آمد. برای بررسی اثرات متقابل این دو اسانس، آزمایش دیگری در غلظت‌های پیشین و به نسبت مساوی (۱:۱) از هر اسانس انجام شد و مقدار LC_{50} مخلوط دو اسانس ۱۵/۸۴ میکرولیتر بر لیتر هوا به‌دست آمد. نسبت هم‌افزایی (SR) این دو اسانس معادل ۱/۸۲ بود که نشان می‌دهد اسانس‌های مذکور اثر یکدیگر را تشدید می‌نمایند. میانگین مرگ‌ومیر ناشی از سمیت تنفسی اسانس‌های اسطوخودوس، رزماری و مخلوط آن‌ها به ترتیب ۶۱/۲۹، ۳۸/ ۷۷ و ۸۱/۵۸ درصد به‌دست آمد.

واژه‌های کلیدی: اسانس گیاه، زیست‌سنجی، محصول انباری، مدیریت آفت

مقدمه

سوسک چهار نقطه‌ای حبوبات، *Callosobruchus maculatus* (F.) (Col., Chrysomelidae) از آفات مهم حبوبات انبارشده در سرتاسر دنیا است. این حشره با تغذیه از بیشتر حبوبات جز جنس *Phaseolus* می‌تواند به محصولاتی مانند لوبیا چشم‌بلبلی، ماش، عدس، نخود و باقلا بویژه در مناطق گرم و مدیترانه‌ای خسارت وارد نماید. خسارت این آفت روی لوبیا چشم بلبلی گاهی آنقدر شدید است که در مدت زمان کوتاهی قادر است تمام محصول را از بین ببرد (۲). در مواردی از غرب آفریقا گزارش شده است که بذرهای لوبیا چشم بلبلی، پس از ۳ تا ۵ ماه نگهداری در انبار، صد درصد محصول به این آفت آلوده شده بودند (۲۵). این آفت قادر است وزن بذرهای لوبیای انباری را به میزان ۶۰ درصد کاهش دهد (۳۰). این آفت با مصرف اندوخته غذایی بذرها کیفیت و قدرت جوانه‌زنی آن‌ها را کاهش داده و در صورت کاشت، گیاهچه‌های ضعیف رشد می‌کنند (۲۶).

در حال حاضر برای حفاظت محصولات انباری در برابر حمله آفات انباری از ترکیبات مصنوعی شیمیایی مختلف استفاده می‌شود، ولی کاربرد مداوم این ترکیبات مشکلات متعددی از جمله باقیمانده

۱، ۲ و ۳- به‌ترتیب دانشجوی پیشین کارشناسی‌ارشد حشره‌شناسی کشاورزی، استاد و استادیار گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بوعلی‌سینا، همدان، ایران
(*- نویسنده مسئول: Email: khanjani@bau.ac.ir)
DOI: 10.22067/jpp.v34i2.58875

سموم در مواد خوراکی انسان و مرگ‌ومیر موجودات غیرهدف مانند دشمنان طبیعی آفات، حشرات گرده‌افشان و ماهی‌ها را ایجاد نموده است (۱۶). همچنین گسترش مقاومت حشرات به آفت‌کش‌ها (۲۹)، طغیان مجدد آفات، ظهور آفات ثانوی و تشدید آلودگی‌های زیست محیطی از پیامدهای کاربرد گسترده این ترکیبات بوده است (۲۰). متیل بروماید و فسفین دو ترکیبی هستند که به طور گسترده برای کنترل آفات انباری استفاده شده‌اند. در حال حاضر متیل بروماید به خاطر اثرات زیان‌بار زیست محیطی از دایره سموم مجاز بیشتر کشورهای جهان حذف شده است. اما فسفین هنوز به طور گسترده‌ای مورد استفاده قرار می‌گیرد که درکنار خطرات آن برای محیط زیست و سلامت انسان، بروز مقاومت را در انواع مختلفی از آفات انباری در بر داشته است که باعث توجه بیشتر پژوهشگران به یافتن جایگزین‌های مناسب شده است (۳).

تحقیقات مختلف نشان داده است که اسانس برخی از گیاهان دارای اثرات حشره‌کشی قابل توجهی می‌باشند (۱۰ و ۱۷). ترکیبات گیاهی دارای موادی با اثرهای تخم‌کشی، دورکنندگی، ضد تغذیه‌ای، عقیم‌کنندگی و حشره‌کشی (تماسی، خوراکی یا تنفسی) هستند. از دهه ۱۹۸۰ به کاربرد سمیت تنفسی اسانس‌های گیاهی در کنترل خسارت آفات توجه شده است (۱۱ و ۱۲). مونوترپن‌های موجود در اسانس‌ها دارای خاصیت حشره‌کشی می‌باشند (۱۴). یکی از ویژگی‌های مهم اسانس‌ها در مقایسه با ترکیبات آفت‌کش سنتزی، داشتن یک ماده فعال در هر آفت‌کش سنتزی است، در حالی که اسانس‌ها ترکیبی از چندین ماده با خاصیت حشره‌کشی هستند. این پدیده می‌تواند سرعت بروز مقاومت به اسانس را در جمعیت آفت کند نماید (۱۸). گیاهان معطّر به ویژه گونه‌های گیاهی متعلق به خانواده نعناعیان (Lamiaceae) منبع مهمی از اسانس‌های فعال زیستی بوده که دارای خاصیت حشره‌کشی بالایی می‌باشند (۲۳). در این تحقیق از اسانس گیاهان اسطوخودوس، *L. angustifolia* Mill و رزماری، *R. officinalis* L. به صورت جداگانه به منظور بررسی سمیت تنفسی آن‌ها و به صورت مخلوط به منظور بررسی برهم‌کنش آن‌ها روی حشره کامل سوسک چهار نقطه‌ای حبوبات استفاده شده است.

مواد و روش‌ها

پرورش سوسک: حشرات کامل سوسک چهارنقطه‌ای حبوبات از موسسه تحقیقات گیاه‌پزشکی ایران واقع در تهران تهیه شد. این حشرات درون دستگاه انکوباتور تلکو ساخت امریکا، با دمای ۱±۲۷ درجه سلسیوس، رطوبت نسبی ۵±۶۵ درصد و دوره نوری ۱۶ ساعت تاریکی و ۸ ساعت روشنایی روی ماش و لوبیا چشم بلبلی داخل سطل‌های یک‌بار مصرف استوانه‌ای شکل با ارتفاع ۱۳ و قطر ۲۰ سانتی‌متر در آزمایشگاه اداره‌ی حفظ نباتات سازمان جهاد کشاورزی استان قم به صورت انبوه پرورش داده شدند. چون این آفت تمام مراحل لاروی و شفیرگی خود را داخل دانه سپری می‌کند، مقدار کافی از مخلوط دانه‌های ماش و لوبیا چشم بلبلی (۲۰۰ گرم) داخل ظرف‌های پرورش قرار داده شد تا از تخم‌گذاری انبوه آفت روی هر دانه و رقابت لاروها جلوگیری شود. برای هم‌سن سازی حشرات کامل، ابتدا توسط یک الک با مش ۱۰ که سوسک‌ها به راحتی از آن عبور می‌کردند ولی دانه‌های ماش و لوبیا چشم بلبلی روی آن باقی می‌ماندند، محتویات ظرف‌های کشت اولیه الک شدند. پس از جداسازی حشرات مرده و زنده، حشرات زنده در محیط کشت جدید حاوی ماش (۲۰۰ گرم) قرار گرفته و درب ظرف با یک قطعه توری مسدود شد. ظرف‌های مزبور به داخل انکوباتور منتقل شدند تا ماده‌ها تخم‌گذاری را انجام دهند. ظرف‌های حاوی حشرات پس از چهار روز از انکوباتور خارج شده و دوباره الک شدند تا حشرات کامل برای تخم‌گذاری به ظرف‌های مشابه جدیدی منتقل شوند. هر ظرف تقریباً بعد از گذشت ۴۰ روز دارای حشرات کامل هم‌سن بود. تاریخ شروع تخم‌گذاری و شماره هر ظرف یادداشت شد تا سن حشرات به‌طور دقیق مشخص باشد.

آزمون‌های زیست‌سنجی: اسانس‌های گیاهی مورد نظر از شرکت باریج اسانس تهیه و در آزمون‌ها مورد استفاده قرار گرفتند. در هر تکرار ۲۰ حشره‌ی کامل (نر و ماده) هم‌سن (یک تا سه روزه) سوسک چهارنقطه‌ای حبوبات داخل ظرف‌های شیشه‌ای درب‌دار به حجم ۶۰ میلی‌لیتر قرار داده شدند. پس از تعیین غلظت‌های مورد نظر در آزمون‌های اولیه، با استفاده از میکروپیپت مقادیر ۰/۷۲، ۱/۵، ۲/۷، ۵/۱۶، ۹/۹۶، ۱۹/۲ میکرولیتر (معادل ۱۲، ۲۵، ۴۵، ۸۶، ۱۶۶، ۳۲۰ میکرولیتر بر لیتر هوا) از اسانس خالص گیاهان اسطوخودوس *L. angustifolia* و رزماری (*R. officinalis*) روی قطعات کاغذ صافی درون ظرف‌ها ریخته و درب ظرف‌ها ابتدا توسط یک قطعه توری نازک (به منظور جلوگیری از تماس سوسک‌ها با درب اصلی) و سپس درب اصلی پوشیده شدند. برای جلوگیری از نشت اسانس، دور درب ظرف‌ها با نوار میکروفیلم پوشانیده شد. بعد از گذشت ۲۴ ساعت، تعداد حشرات مرده (حشراتی که قادر به تکان دادن پاها و شاخک خود نبودند، مرده در نظر گرفته شدند) در پنج تکرار با شش غلظت و یک شاهد برای هر اسانس ثبت شدند. برهم‌کنش احتمالی اسانس‌ها در پنج تکرار با شش غلظت پیشین از مخلوط مساوی اسانس‌های رزماری و اسطوخودوس انجام شده و مرگ‌ومیر حشرات بعد از ۲۴ ساعت شمارش و یادداشت شد. این آزمایش‌ها در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام شد.

تجزیه داده‌ها: داده‌های مرگ‌ومیر حشرات در غلظت‌های مختلف اسانس و شاهد بطور جداگانه در محیط نرم‌افزار اکسل ثبت

شده و پس از انجام تصحیحات لازم به روش ابوت (۱)، لگاریتم آن‌ها محاسبه شد. داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار POLO-PC و بر اساس مدل پروبیت فینی (۶) تجزیه شده و پارامتر LC_{50} و حدود بالا و پایین آن در سطح ۰/۹۵ محاسبه گردید. تجزیه واریانس و مقایسه میانگین با آزمون دانکن توسط نرم افزار SAS 9.1 انجام شد. نمودار میانگین تلفات و نمودار پروبیت درصد مرگ‌ومیر- غلظت با نرم‌افزار اکسل رسم شدند.

تجزیه پروبیت رابطه مرگ‌ومیر- غلظت (جدول ۱) نشان داد که مقدار فاکتور g در استفاده‌ی جداگانه و توام اسانس رزماری و اسطوخودوس کمتر از ۰/۵ و نسبت t بیشتر از ۱/۹۶ بود (نسبت t می‌بایست از ۱/۹۶ بیشتر باشد) فاکتور هتروژنیستی برای هر دو اسانس بیشتر از یک بود. فاکتور هتروژنیستی در نتایج آنالیز پروبیت نشان دهنده اعمال فاکتور g (۰/۹۵) در تصحیح مقادیر LC_{50} می‌باشد.

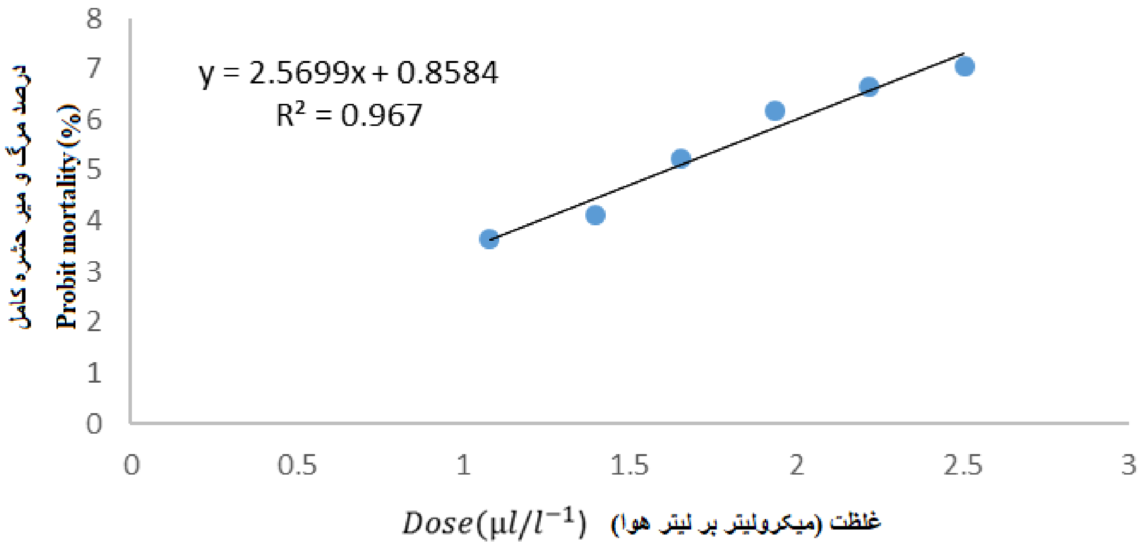
نتایج

جدول ۱- آنالیز پروبیت درصد مرگ‌ومیر- لگاریتم غلظت اسانس‌های رزماری و اسطوخودوس روی حشره‌ی کامل سوسک چهارنقطه‌ای حبوبات در شرایط آزمایشگاه

Table 1- Probit analysis of mortality percentage-Logarithm concentrations of essential oils of rosemary and lavender on *Callosobruchus maculatus* under laboratory conditions

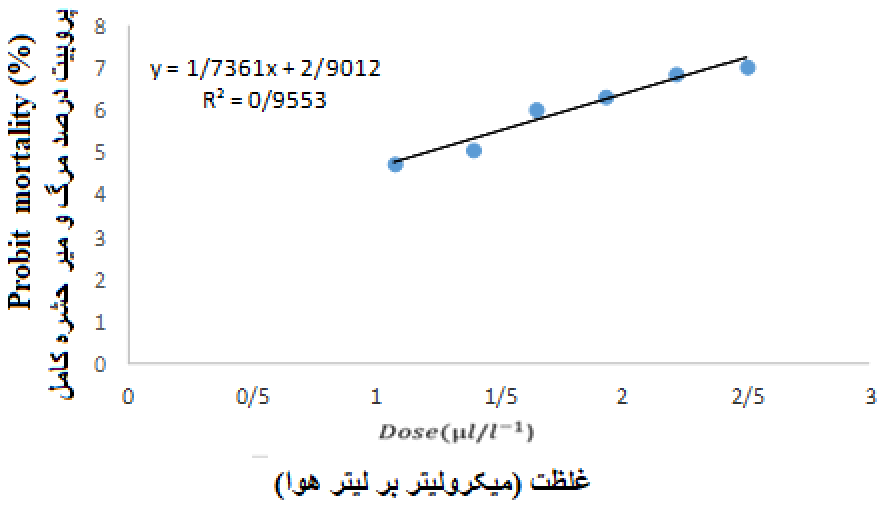
تیمار Treatment	N	df	X^2	Slope ± SE	نسبت t Rate t	فاکتور g (۰/۹۵) Factor g (0.95)	هتروژنیستی Heterogenic	Lethal concentration (μL/L)		
								LC_{25}	LC_{50}	LC_{90}
Lavender اسطوخودوس	700	5	11.095	± 0.191 2.803	11.08	0.119	2.77	23.20	40.39	115.72
Rosemary رزماری	700	5	7.6	± 0.179 2.250	14.70	0.099	1.9	7.59	17.39	83.90
Rosemary * Lavender رزماری * اسطوخودوس	700	5	3.8	± 0.235 2.460	10.44	0.35	0.95	8.42	15.84	52.70

نمودارهای پروبیت درصد مرگ‌ومیر- لگاریتم دز نشان داد که با افزایش غلظت اسانس اسطوخودوس و رزماری، درصد مرگ‌ومیر افزایش می‌یابد (شکل‌های ۱ و ۲). شیب خط رگرسیون بین درصد مرگ‌ومیر و غلظت هر دو اسانس مثبت و معنی‌دار بود.



شکل ۱- سمیت تنفسی حاد اسانس اسطوخودوس روی حشره‌ی کامل *Callosobruchus maculatus* در شرایط آزمایشگاه

Figure 1- Fumigant acute toxicity of essential oil of lavender on *Callosobruchus maculates* mortality under laboratory conditions



شکل ۲- سمیت تنفسی حاد اسانس رزماری روی حشره‌ی کامل *Callosobruchus maculatus* در شرایط آزمایشگاه

Figure 2- Fumigant acute toxicity of essential oil of rosemary on *Callosobruchus maculates* mortality under laboratory conditions

مقایسه‌ی میانگین درصد مرگ‌ومیر ناشی از اسانس اسطوخودوس نشان داد که بیش‌ترین درصد مرگ‌ومیر معادل ۹۷/۷۵ درصد در غلظت ۳۲۰ میکرولیتر بر لیتر هوا و کم‌ترین درصد مرگ‌ومیر معادل ۸/۷ درصد در غلظت ۱۲ میکرولیتر بر لیتر هوا اتفاق افتاد (شکل ۲). همچنین میانگین درصد مرگ‌ومیر ناشی از اسانس اسطوخودوس برابر ۶۱/۲۹ درصد به‌دست آمد.

نتایج رتبه‌بندی تیمارهای t_1، t_2، t_3، t_4، t_5، t_6 به ترتیب مربوط به غلظت‌های ۳۲۰، ۱۶۶، ۸۶، ۴۵، ۲۵، ۱۲ میکرولیتر بر لیتر هوا نشان داد بیش‌ترین مرگ‌ومیر مربوط به غلظت‌های ۳۲۰ و ۱۶۶ میکرولیتر بر لیتر هوا در بالاترین سطح یعنی رتبه A و کم‌ترین مرگ‌ومیر مربوط به غلظت ۱۲ میکرولیتر بر لیتر هوا در پایین‌ترین گروه یعنی E قرار داشت (شکل ۳). مقایسه میانگین غلظت‌های اسانس رزماری به روش آزمون چند دامنه‌ای دانکن نشان داد بیش‌ترین میزان مرگ‌ومیر (۹۷/۸۵ درصد و ۹۶/۷۷ درصد) مربوط به غلظت‌های ۳۲۰ و ۱۶۶ میکرولیتر بر لیتر هوا و کم‌ترین میزان مرگ‌ومیر (۳۹/۸۵ درصد) مربوط به غلظت ۱۲ میکرو لیتر بر لیتر هوا بود (شکل ۴). میانگین مرگ‌ومیر حاصل از تاثیر اسانس رزماری معادل ۷۷/۳۸ درصد گردید. بررسی‌های انجام شده توسط شاه کرمی و همکاران (۲۴) روی سمیت تنفسی مرزه، پونه، رزماری و اسطوخودوس روی حشره کامل سوسک چهارنقطه‌ای حبوبات میزان مرگ‌ومیر حشرات کامل را در غلظت ۵۶۰ میکرو لیتر بر لیتر هوا به ترتیب ۹۵/۷۸، ۷۸/۱۱،۶۵/۸۷، ۵۷/۳۳ بدست آوردند، که این اختلاف می‌تواند مربوط به نوع گونه و روش اسانس‌گیری و فضای انجام آزمایش باشد.

جدول ۲- تجزیه واریانس تاثیر اسانس اسطوخودوس روی حشره کامل *C.maculatus* در شرایط آزمایشگاه

Table 2- Analysis of variance of effective essential oil of lavender on adult of *C. maculatus* under laboratory conditions

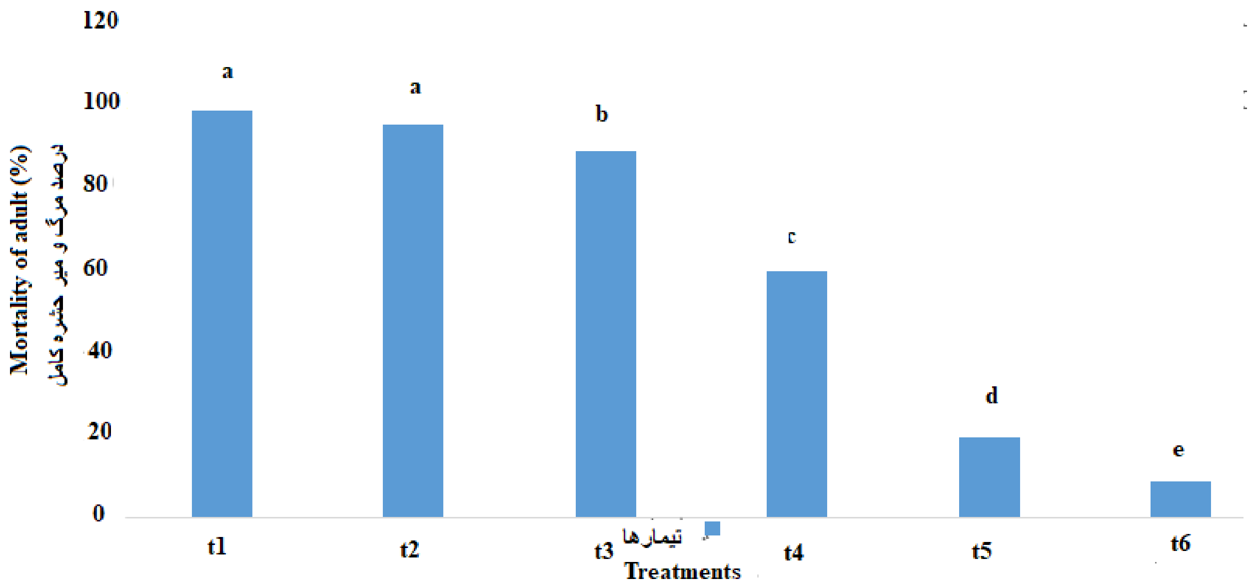
منابع تغییر (S.O.V.)	df	SS	MS	F	F <Pr
(Replication) تکرار	4	10.68	2.67	2.2 ^{ns}	0.99
(Treatment) تیمار	6	2202.42	367.07	302.67**	0.0001
(Error) خطا	24	29.1	1.2127		
(CV) ضریب تغییر		10.45			

**اختلاف معنی‌دار در سطح یک درصد (Significant at the 1%)

در نتایج رتبه‌بندی تیمارها بر حسب غلظت، بیش‌ترین مرگ‌ومیر مربوط به غلظت‌های ۳۲۰ و ۱۶۶ میکرولیتر بر لیتر هوا بود که در بالاترین سطح یعنی A قرار داشت، همچنین با توجه به اینکه تیمار سوم در رتبه AB قرار گرفت بین غلظت ۸۶ میکرو لیتر بر لیتر هوا و غلظت‌های ۱۶۶ و ۳۲۰ میکرو لیتر هوا اختلاف معنی‌دار نبوده و در یک سطح قرار داشتند، لذا جهت مصرف بهینه اسانس می‌توان غلظت

۸۶ میکرو لیتر بر لیتر هوا را باید در نظرگرفت.کم‌ترین مرگ‌ومیر مربوط به غلظت ۱۲ میکرولیتر بر لیتر هوا است که در پایین‌ترین گروه یعنی D قرار دارد. با مقایسه آن با اسانس اسطوخودوس مشخص گردید که میزان مرگ‌ومیر اسانس رزماری نسبت به اسانس اسطوخودوس در غلظت‌های یکسان بالاتر می‌باشد و این نشان می‌دهد اسانس رزماری اثر حشره‌کشی بالاتری نسبت به اسانس اسطوخودوس روی حشره کامل سوسک چهارنقطه‌ای حبوبات دارد.

نتایج تجزیه واریانس استفاده توام دو اسانس نشان داد که غلظت‌های مختلف دو اسانس روی میزان مرگ‌ومیر اثر داشته و در سطح یک درصد معنی‌دار بودند (جدول ۴) و درصد مرگ‌ومیر استفاده مخلوط دو اسانس مانند استفاده جداگانه آن‌ها با افزایش غلظت افزایش می‌یابد. با مقایسه نمودار پروبیت درصد مرگ‌ومیر و غلظت استفاده توام دو اسانس مشخص گردید شیب خط رگرسیون بیش‌تر از شیب استفاده جداگانه آن‌ها می‌باشد (شکل ۵). با مقایسه میانگین مرگ‌ومیر بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن مشخص شد میزان مرگ‌ومیر در اثر استفاده توام بالاتر از میزان مرگ‌ومیر تاثیر جداگانه هر کدام از اسانس‌ها می‌باشد (شکل ۳).



شکل ۳- مقایسه میانگین درصد مرگ‌ومیر ناشی از سمیت تنفسی حاد اسانس اسطوخودوس روی حشره‌ی کامل *Callosobruchus maculatus* در آزمایشگاه

با آزمون چند دامنه‌ای دانکن تفاوت معنی‌داری را در سطح ۰/۰۵ میان میانگین‌هایی با حروف مشابه نشان نداد.

Figure 3- Mean percentage mortality of essential oil of lavender on *C. maculatus* by multiple Duncan method test
(Different letters showed significant differences (P0≤05).

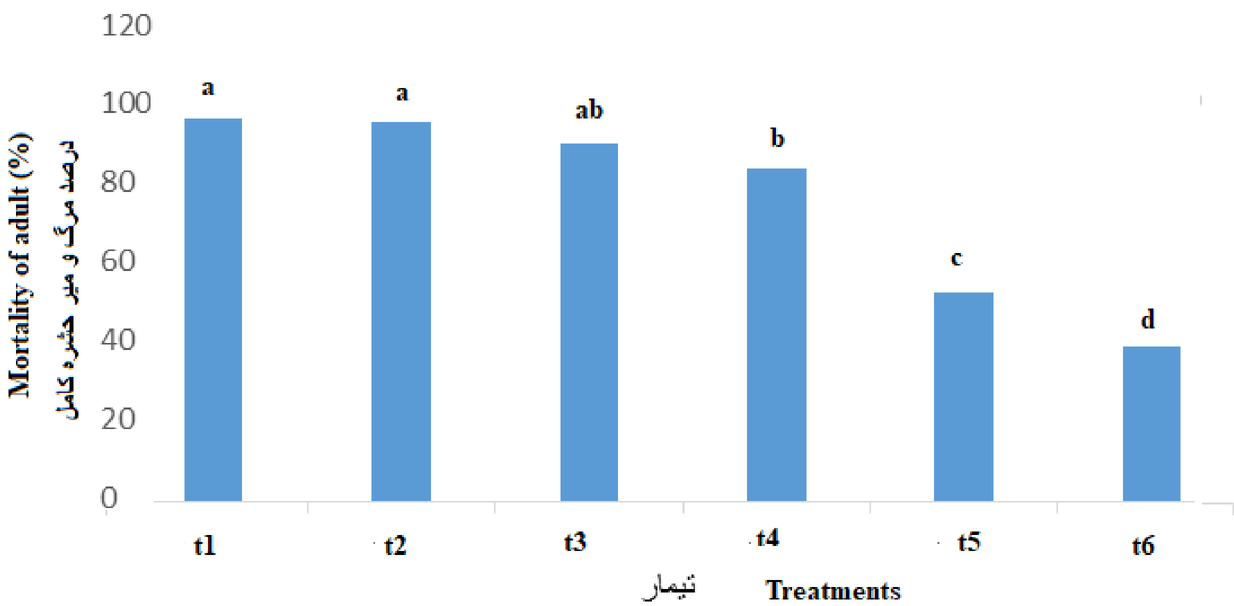
جدول ۳- تجزیه واریانس تاثیر اسانس رزماری روی حشره کامل، *C. maculatus* در شرایط آزمایشگاه

Table 3- Analysis variance of effective essential oil of rosmary on adult of *C. maculatus* under laboratory conditions

منابع تغییر (S.O.V.)	df	SS	MS	F	F <Pr
Replication تکرار	4	8.43	2.11	1.52^{ns}	0.228
Treatment تیمار	6	1642.38	273.73	197.65^{**}	0.0001
Error خطا	24	32.23	1.38		
ضریب تغییر (CV)				8.85	

**اختلاف معنی‌دار در سطح یک درصد

** Significant differences (P0.01)

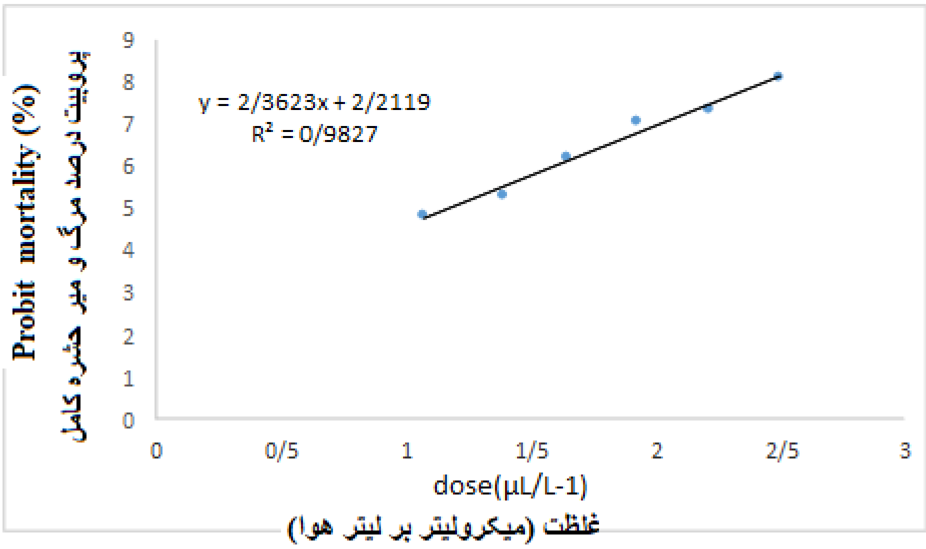


شکل ٤- مقایسه میانگین درصد مرگ‌ومیر ناشی از سمیت تنفسی حاد اسانس رزماری روی حشره‌ی کامل *Callosobruchus maculatus* در آزمایشگاه

آزمون چند دامنه‌ای دانکن تفاوت معنی‌داری را در سطح ۰/۰۵ میان میانگین‌هایی با حروف مشابه نشان نداد.

Figure 3- Mean percentage mortality of essential oil of rosmary on *C. maculatus* by multiple Duncan method test

Different letters showed significant differences (P≤0.05).



شکل ۵- تاثیر توام اسانس رزماری و اسطوخودوس روی حشره کامل سوسک چهار نقطه‌ای حبوبات در آزمایشگاه

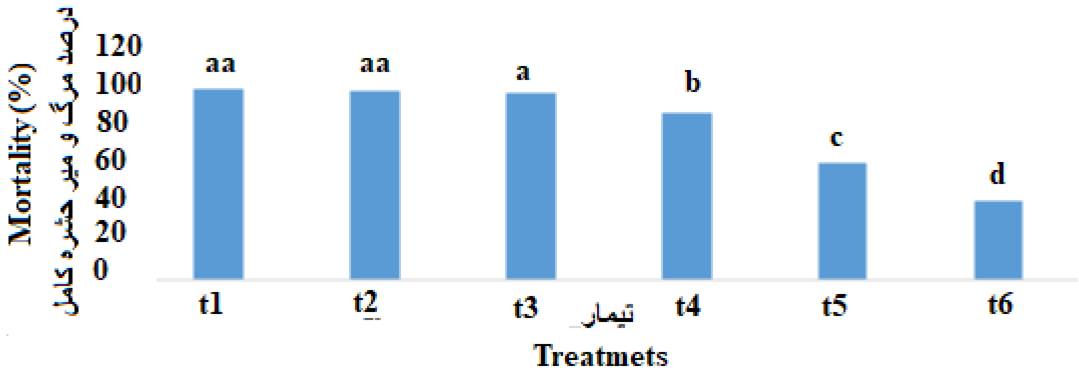
Figure 5- Simultaneously effective of rosemary and lavender on the adult of *C. maculatus*at under laboratory conditions

بر اساس نتایج حاصل از رتبه‌بندی تیمارها بر حسب غلظت نشان می‌دهد که بیش‌ترین مرگ‌ومیر مربوط به غلظت‌های ۳۲۰، ۱۶۶، ۸۶ میکرولیتر بر لیتر هوا بود که در بالاترین سطح یعنی A قرار گرفته‌اند، همچنین کمترین تلفات مربوط به غلظت ۱۲ میکرولیتر بر لیتر هوا بوده که در پایین‌ترین گروه یعنی D قرار دارند. با مقایسه آن با رتبه بندی اسانس اسطوخودوس و رزماری مشخص شد که میانگین مرگ‌ومیر استفاده توام دو اسانس بالاتر از استفاده جداگانه آن‌ها می باشد. میانگین مرگ‌ومیر تاثیر توام دو اسانس رزماری و اسطوخودوس معادل ۸۱/۵۸ درصد بود.

جدول ٤- نتایج حاصل از تجزیه واریانس تاثیر توام اسانس‌های رزماری و اسطوخودوس روی حشره کامل *C.maculatus*، در آزمایشگاه

Table 4- Analysis variance of simultaneously effective of rosemary and lavender on the adult of *C. maculatus*at under laboratory conditions

منابع تغییر (S.O.V.)	df	SS	MS	F	pr>F
تکرار	4	1.31	0.33	0.41^{ns}	0.802
Rosemary + lavender رزماری + اسطوخودوس	6	۱۷۱۹/۳۸	286.65	356.5^{**}	0.0001
Error خطا	24	۱۹/۲۹	0.804		
ضریب تغییر (CV)				6.4	



نمودار ٦- مقایسه میانگین درصد مرگ‌ومیر ناشی از سمیت تنفسی حاد ناشی از نسبت مساوی از مخلوط اسانس‌های رزماری و اسطوخودوس روی حشره کامل *Callosobruchus maculatus* در آزمایشگاه

آزمون چند دامنه‌ای دانکن تفاوت معنی‌داری را در سطح ۰/۰۵ میان میانگین‌هایی با حروف مشابه نشان نمی‌دهد.

Figure 6- Mean Comparison of simultaneously effective of rosemary and lavender on the adult of *C. maculatus*at under laboratory conditions

*Different letters showed significant differences (P≤0.05)

با توجه جدول ۱ و مقایسه LC_{25}، LC_{50} و LC_{90} بدست آمده از استفاده توام اسانس رزماری و اسطوخودوس و مقایسه آن‌ها با LC های بدست آمده از آزمایش هر کدام از اسانس‌ها به صورت جداگانه مشخص گردید این دو اسانس روی یکدیگر اثر متقابل دارند. افزایش سمیت به علت فعال شدن یکی از اجزا مخلوط می‌باشد، هم‌افزایی زمانی اتفاق می‌افتد که اثر کشندگی مصرف توام دو ماده بالاتر از مصرف آن‌ها به صورت تکی باشد، نسبت هم‌افزایی (SR)[1] حاصل تقسیم LC_{50} مورد انتظار دو اسانس بر LC_{50} بدست آمده از استفاده توام (مشاهده شده) آن‌ها می‌باشد، اگر SR<0.7 باشد دو ماده دارای اثر آنتاگونیستی و اگر SR=۰/۷-۱/۸ دو ماده دارای اثری و اگر SR>۱/۸ باشد دارای اثر هم‌افزایی شدید می‌باشند. محاسبه نسبت هم‌افزایی (SR) معادل ۱/۸۲محاسبه گردید نشان داد که اسانس‌های رزماری و اسطوخودوس نسبت به هم دارای اثر هم‌افزایی بوده و اثر یکدیگر را افزایش داده‌اند و میزان سمیت مخلوط ۱:۱ آن‌ها نسبت به استفاده جداگانه روی حشره کامل سوسک چهار نقطه‌ای حبوبات افزایش داشته است. درآزمایش‌های صورت گرفته توسط کرشناراجه و همکاران (۱۳) روی حشرات کامل پروانه بید غلات *Sitotroga cerealella* (Lep., Gelichiidae) نشان داد مخلوط ۱:۱ اسانس‌های علف لیمو، *Cymbopogon nardus* (L.) (Poaceae) و پنج انگشت *Vitex negundo* (L.) (Lamiaceae) بیشتر ازسمیت هرکدام به‌تنهایی بود. دون پدرو (۵) اثر هم‌افزایی ترکیبات مختلف اسانس پوست مرکبات به صورت توام روی حشرات کامل سوسک چهار نقطه‌ای حبوبات را گزارش کردند، آنها اعلام نمودند که مخلوط آلفا فلاندرین و پی سیمن موثرتر از ترپن‌های یافت شده به تنهایی بوده است. مطالعات مبکی و همکاران (۱۹) روی سمیت تنفسی اسانس پوست میوه نارنگی و اثر تشدید کنندگی دی اتیل مالئات و استون روی حشره‌ی کامل سوسک چهار نقطه‌ای حبوبات نشان داد که کاربرد توام دی اتیل مالئات و اسانس پوست میوه نارنگی باعث تشدید اثرات کشندگی آن‌ها می‌شود، LC_{50} حاصل از تاثیر اسانس پوست میوه نارنگی ۸۸/۹۳ میکرولیتر بر لیتر هوا و LC_{50} استفاده توام از اسانس پوست میوه نارنگی و دی اتیل مالئات ۵۴/۵۴ میکرولیتر بر لیتر هوا محاسبه شد، ضریب هم‌افزایی بدست آمده درآزمایش مذکور

1- Synergistic ratio

۱/۶۳ گردید. بنابراین بکارگیری توأم دو اسانس دو اسانس رزماری و استوخودوس مانند توام از اسانس پوست میوه نارنگی و دی اتیل مالئات و همچنین مخلوط آلفا فلاندرین و پی سیمن اثر هم‌افزایی داشته‌اند

بحث

نتایج بدست آمده نشان داد که اسانس‌های رزماری و اسطوخودوس روی حشره کامل سوسک چهار نقطه‌ای حبوبات دارای سمیت بوده و بین میزان مرگ‌ومیر و غلظت اختلاف معنی‌داری وجود داشت، یعنی با افزایش غلظت اسانس میزان مرگ‌ومیر هم افزایش یافت،که با نتایج بدست آمده توسط کیتا و همکاران (۱۲) و تریپاتی و همکاران (۲۸) مبنی بر افزایش مرگ‌ومیر حشرات کامل سوسک چهارنقطه‌ای حبوبات و شپشه آرد دراثر افزایش غلظت اسانس مطابقت دارد.

همچنین با توجه جدول ۱ مشخص گردید بین میزان مرگ‌ومیر اسانس رزماری و اسطوخودوس اختلاف معنی‌داری وجود دارد، به توجه به LC_{50}، LC_{90} بدست آمده می‌توان گفت اسانس رزماری نسبت به اسانس اسطوخودوس در غلظت یکسان دارای میزان کشندگی بالاتری می‌باشد به عبارت دیگر اسانس رزماری با غلظت کمتر نسبت یه اسانس اسطوخودوس همان میزان کشندگی را دارا می‌باشد.

مقدار LC_{50} بدست آمده اسانس‌های اسطوخودوس ورزماری روی حشره‌ی کامل سوسک چهار نقطه‌ای در شرایط آزمایشگاه به ترتیب برابر ۴۰/۳۹ و ۱۷/۳۹ میکرولیتر بر لیتر هوا گردید در حالیکه گلستانی کلات و همکاران (۸) میزان LC_{50} اسانس اسطوخودوس برای حشرات نر سوسک چهار نقطه‌ای حبوبات معادل ۳۴ میکرولیتر بر لیتر هوا و برای حشرات ماده معادل ۵۴ میکرولیتر بر لیتر هوا بدست آوردند. منظومی و همکاران (۱۷) میزان LC_{50} اسطوخودوس را برابر ۴۱/۵۲ میکرولیتر بر لیتر هوا بدست آوردند که نتایج بدست آمده در این تحقیق با آن‌ها مطابقت دارد. لی و همکاران (۱۴) بدون مشخص کردن نام علمی گونه‌های گیاهی، سمیت تنفسی ۱۸ اسانس گیاهی از جمله سه اسانس متعلق به گیاهانی از خانواده نعناعیان که شامل: اسطوخودوس، رزماری و آزربه روی شپشه برنج (*Sitophilus oryzae*) بررسی کردند، نامبردگان مقادیر LC_{50} تنفسی سه اسانس اخیر را پس از ۲۴ ساعت ترتیب به ۳۰/۵، ۵۴ و ۶۳/۹ میکرولیتر بر لیتر هوا برآورد کردند، که علت این اختلاف را می‌توان به نوع حشره و یا نوع گونه و روش اسانس‌گیری مربوط دانست.

شاه کرمی و همکاران (۲۴) در بررسی سمیت تنفسی اسانس پونه (*Mentha pulegium*)، مزره (*Satureia hortensis*)، اسطوخودوس (*N. menthoides*) و رزماری (*R. officinalis*) روی حشره کامل سوسک چهار نقطه‌ای حبوبات میزان LC_{50} اسانس‌های مذکور را به ترتیب ۱۰۶، ۶۹، ۳۲۲، ۲۰۵ میکرولیتر بر لیتر هوا بدست آوردند، دلیل این اختلاف را می‌توان به تفاوت شرایط دمایی، رطوبت زمان تولید، روش‌های اسانس‌گیری و نوع گونه‌ی گیاهی مربوط دانست، گونه‌ی اسطوخودوس مورد بررسی آن‌ها با گونه‌ی گیاهی این آزمایش متفاوت بود.

با توجه به جدول ۲ با اطمینان می توان گفت که بین تیمارها ۹۹درصد اختلاف معنی‌دار وجود دارد و با توجه به شکل ۳ مقایسه میانگین درصد مرگ‌ومیر اسانس اسطوخودوس به روش آزمون چند دامنه‌ای دانکن مشخص شد که بیش‌ترین میزان مرگ‌ومیر مربوط به t_1که غلظت ۳۲۰ میکرولیتر بر لیتر هوا می‌باشد که با t_2 که غلظت آن ۱۶۶ میکرولیتر بر لیتر هوا می‌باشد در یک دسته آماری قرار می‌گیرند در نتیجه با توجه به اینکه در تیمار t_2 میزان اسانس کمتری مصرف می‌شود می‌توان گفت جهت استفاده بهینه اسانس اسطوخودوس می توان غلظت ۱۶۶ میکرو لیتر بر لیتر هوا را در نظر گرفت. همان طور که مشاهده می‌شود در سایر غلظت‌ها اثر کشندگی کمتری را دارا می‌باشد و استفاده از سایر غلظت‌های موجود در تیمارها برای کنترل حشره کامل سوسک چهار نقطه‌ای حبوبات مناسب نمی‌باشد.

با توجه به جدول ۴ نتایج حاصل از تجزیه واریانس اثر اسانس رزماری در مرحله حشره کامل می‌توان گفت با اطمینان ۹۹ درصد تفاوت معنی‌دار بین تیمارها وجود دارد و با بررسی شکل ۴ مقایسه میانگین درصد مرگ‌ومیر اسانس رزماری به روش آزمون چند دامنه‌ای دانکن مشخص گردید بیش‌ترین مرگ‌ومیر در تیمار t_1 که غلظت ۳۲۰ میکرولیتر بر لیتر هوا می‌باشد، که با t_2 که غلظت ۱۶۶ میکرولیتر بر لیتر هوا در یک دسته آماری قرار می‌گیرند، وt_3 که در جدول رتبه بندی AB است با t_1، t_2 اختلاف معنی‌دار ندارد در نتیجه با توجه به اینکه در تیمار t_3 میزان اسانس کم‌تری مصرف می‌شود می‌توان برای استفاده بهینه اسانس رزماری غلظت ۸۶ میکرولیتر بر لیتر هوا را در نظر گرفت هم‌چنین کم‌ترین مرگ و میر مربوط به غلظت ۱۲ میکرولیتر بر لیتر هوا است که در پایین‌ترین گروه یعنی D قرار دارد.

با توجه به جدول ۱ که LC های دو اسانس اسطوخودوس و رزماری را نشان می‌دهد مشخص شد که اسانس رزماری عملکرد بالاتری نسبت به اسطوخودوس روی حشره کامل سوسک چهار نقطه‌ای حبوبات داشت، همچنین نشان می‌دهد که میزان کشندگی استفاده توام آن‌ها در غلظت یکسان بالاتر از میزان کشندگی هر کدام به تنهایی می‌باشد(LC_{50} رزماری ۱۷/۳۹ و LC_{50} اسطوخودوس ۴۰/۳۹ و LC_{50} توام آن‌ها برابر۱۵/۸۴میکرولیتر بر لیتر هوا). به عبارت دیگر غلظت مصرفی برای ایجاد تلفات مساوی دراستفاده توام پایین‌تر می‌باشد.

استفاده توام دو اسانس اسطوخودوس و رزماری روی حشره کامل سوسک چهار نقطه‌ای حبوبات نشان داد این دو اسانس نسبت به هم دارای اثرات متقابل می‌باشند. مقایسه LC_{50} مورد انتظار دو اسانس و LC_{50} بدست آمده از تاثیر توام دو اسانس نسبت هم‌افزایی (SR) برابر ۱/۸۲ بود، چون بزرگتر از استاندارد سینرژیست بالاتر است بنابراین دو ماده دارای اثرات سینرژسیتی هستند. هم‌چنین میانگین درصد مرگ‌ومیر تاثیر مخلوط ۱:۱ دو اسانس بیش‌تر از میانگین درصد مرگ و میر هر کدام به تنهایی بود، میانگین درصد مرگ و میراسانس اسطوخودوس و رزماری و مخلوط آن‌ها به ترتیب برابر ۶۱/۲۹، ۷۷/۳۸، ۸۱/۵۸ بود، که این موضوع توسط محققان دیگر نیز گزارش شده است. تحقیقات صورت گرفته در بررسی اثرات حشره‌کشی اسانس برگ نوعی درمنه و کافور روی حشره کامل سرخرطومی برنج نشان داد استفاده مخلوط دو اسانس درصد حشره‌کشی بالاتری نسبت به استفاده تکی هر کدام از اسانس‌های مورد آزمایش بوده است، درصد مرگ‌ومیر اسانس درمنه و کافور و مخلوط آن‌ها به ترتیب ۳۷/۳، ۵۱/۷، ۶۱/۷ درصد بوده است (۱۵). همچنین اثر مخلوط دو اسانس سیر و عصاره فلفل روی میزان مرگ‌ومیر حشرات کامل شپشه قرمز آرد حشرات کامل افزایش معنی‌دار داشته که در واقع نشان دهنده وجود خاصیت هم‌افزایی بین دو ترکیب بوده است (۴).

نتیجه‌گیری

این تحقیق نشان داد اسانس‌های اسطوخودوس و رزماری دارای اثر حشره‌کشی مناسبی روی حشره کامل سوسک چهارنقطه‌ای حبوبات می‌باشند. همچنین بین میزان مرگ‌ومیر و غلظت هر یک از اسانس‌ها ارتباط مثبت و معنی‌داری وجود داشت، یعنی با افزایش غلظت اسانس میزان مرگ‌ومیر هم افزایش یافت. با مقایسه میزان مرگ‌ومیر حاصل از دو اسانس و LC_{50} آن‌ها مشخص شد که اسانس رزماری دارای سمیت بالاتری نسبت به اسانس اسطوخودوس می‌باشد و در غلظت مشخص از دو اسانس درصد حشره‌کشی اسانس رزماری بالاتر می‌باشد، LC50 رزماری ۱۷/۳۹ و LC50 اسطوخودوس ۴۰/۳۹ میکرولیتر بر لیتر هوا بدست آمد. استفاده مخلوط ۱:۱ دو اسانس رزماری و اسطوخودوس روی حشره کامل سوسک چهارنقطه‌ای حبوبات مشخص کرد این دو اسانس دارای اثرات متقابل می‌باشند و با توجه به مقایسه LC_{50} هر کدام از اسانس‌ها با LC_{50} تاثیر توام آن‌ها که ۱۵/۸۴ بدست آمد، نسبت هم‌افزایی برابر(SR) ۱/۸۲ محاسبه گردید، (SR>0.7) پس مشخص شد دو اسانس رزماری و اسطوخودوس نسبت به هم دارای اثرات هم‌افزایی می باشند. با مقایسه میانگین مرگ و میر استفاده جداگانه هر اسانس و استفاده مخلوط آن‌ها مشخص گردید، میزان مرگ و میر مخلوط آن‌ها بالاتر می‌باشد میزان مرگ و میر اسانس اسطوخودوس و رزماری و مخلوط آن‌ها به ترتیب ۶۱/۲۹، ۷۷/۳۸ و ۸۱/۵۸ درصد گردید. با مقایسه نسبت LC_{50} دو اسانس و بالاتر بودن سمیت اسانس رزماری نسبت به اسطوخودوس می‌توان گفت تاثیر رزماری در هنگام استفاده توام آن‌ها روی اسطوخودوس بیش‌تر می‌باشد. با توجه به این‌که ترکیبات اصلی اسانس اسطوخودوس (*L. angustifolia*) لینالول، ۱ و ۸- سینئول، روزفوران اپوکساید، منتون، ایزومنتول و ترانس- دی هیدروکاروون می‌باشند (۷)، و عمده‌ترین ترکیبات موجود در اسانس رزماری ۱ و ۸- سینئول، بورنئول، کامفر، کامفن، بورنیل استات، آلفا پینن و بتا پینن تشکیل می‌دهند (۲۹)، و با توجه به این‌که ترکیبات ۱، ۸ سینئول و آلفا پنین بازدارنده آنزیم استیل کولین استراز و هم‌افزایی یکدیگرند (۹) اظهار نظر در مورد نحوه تاثیر و اینکه کدامیک از ترکیبات تشکیل دهنده این دو اسانس باعث بروز اثرات هم‌افزایی گردیده، نیاز به تحقیق و بررسی بیش‌تر روی اثرات متقابل هر یک از اجزاء تشکیل دهنده این دو اسانس می‌باشد.

منابع

1- Abbott W.S. 1925. A method of computing the effectiveness of an insecticide. Journal of Economic Entomology 18(2): 265-267.

2- Bagheri Zanouz E. 1375. Coleoptera pests in Iran. Sepehr Press Center,

3- Bell C.H. 2000. Fumigation in the 21st century. Crop Protection 19: 563-569.

4- Chew J.Z.G., and Ho S.H. 2002. Bioactivities of pepper extract and garlic oil on *Tribolium castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae) and *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae). Stored-product and Quarantine Entomology 92: 676-683.

5- Don-Pedro K.N. 1996. Fumigant toxicity is the major route of insecticidal activity of citrus peel essential oils. Pesticide Science 46: 71–78.

6- Finny D.J. 1971. Probit analysis. 3rd eds., Cambridge University Press Center, London.

7- Golestani Kalat Z., Moravvej Gh., Azizi Arani M. and Hatefi S. 2011. Fumigant toxicity of the essential oils from *Lavandula angustifolia* Mill and *Zataria multiflora* Boiss on cowpea weevil, *Callosobruchus maculatus* (F.) (Coleoptera: Bruchidae). Journal of Plant Protection 25(3): 286-295. (In Persian with English abstract)

8- Golestani kalat Z., Moravvej G., and Azizi Arani M. 2014. Repellent effects of the essential oils of *Lavandula angustifolia* Mill. and *Zataria multiflora* Boiss. on *Callosobruchus maculatus* (F.) (Coleoptera: Bruchidae) with

reference to their chemical compositions. Iranian Journal of Pulses Research 5(2): 131-138.
9- Houghton P.J., and Howes M. 2005. Natural products and derivatives affecting neurotransmission relevant to alzheimer's and Parkinson's disease. Neurosignals 14: 6-22.
10- Isman M.B. 2006. Botanical insecticides, deterrents, and repellents in modern agriculture and anincreasingly regulated world. Annual Review of Entomology 51: 45-66.
11- Isman M.B. 2000. Plant essential oils for pest and disease management. Crop Protection 19(810): 603-608.
12- Keita S.M., Vincent C., Schmit J., Ramaswamy S., and Belanger A. 2000. Effect of various essential oils on *Callosobruchus maculatus* (F.) (Coleoptera: Bruchidae). Journal of Stored Products Research 36: 355-364.
13- Krishnarajah S.R., Gawesaligam V.K., and Senanayake U.M. 1985. Repellency and toxicity of some plant oil and their terpene components to *Sitotroga cereallela*. (Oliver) (Lepidoptera, Gelichiidae). Tropical Science 25: 249-52.
14- Lee B.H., Choi W.S., Lee S.E., and Park B.S. 2001. Fumigant toxicity of essential oils and their constituent compounds towards the rice weevil, *Sitophilus oryzae* (L.). Crop Protection 20: 317-320.
15- Liu C.H., Mishra A.K., Tan R.X., Tang C., Yang H., and Shen Y.F. 2006. Repellent and insecticidal activities of essential oils from *Artemisia princeps* and *Cinnamomum camphora* and their effect on seed germination of wheat and broad bean. Bio resource Technology 97: 1969-1973.
16- Mahfuz I., and Khalequzzaman M. 2007. Contact and fumigant toxicity of essential oils against *Callosobruchus maculatus*. University Journal of Zoology, Rajshahi University 26: 63-66.
17- Manzoomi N., Ganbalani G.N., Dastjerdi H.R., and Fathi S.A.A. 2010. Fumigant toxicity of essential oils of *Lavandula officinalis*, *Artemisia dracunculus* and *Heracleum persicumon* the adults of *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Bruchidae).Munis Entomology and Zoology 5(1): 118-122.
18- Miresmailli S., and Isman M.B. 2006. Efficacy and persistence of rosemary oil as an acaricide against two spotted spider mite (Acari: Tetranychidae) on greenhouse tomato. Journal of Economic Entomology 99(6): 2015-2023.
19- Mobki1 M., Safavi S.A. and Safaralizadeh M.H. 2014. Evaluation of fumigant toxicity of the essential oil of Citrus reticulata fruit peels and synergistic effect of diethyl maleate and acetone in the control of the adult cowpea weevils, *Callosobruchus maculatus* F. (Col.: Bruchidae). Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants 30(2): 292-298.
20- Pimentel D., Andow D., Dyson-Hudson R., Gallahan D., Jacobson S., Irish M., Croop S., Moss A., Schreiner I., Shepard M., Thompson T., and Vinzant B. 1980. Environmental and social costs of pesticides: a preliminary assessment. Oikos 34(2): 125-140.
21- Rajapakse R., and Van Emden F. 1997. Potential of four vegetable oils and ten botanical powders for reducing infestation of cowpeas by *Callosobruchus maculatus*, *C. chinesis* and *C. rhodesianus*. Journal of Stored Products Research 33(1): 59-68.
22- Rajendran S., and Sriranjini V. 2008. Plant products as fumigants for stored-product insect control. Journal of Stored Products Research 44: 126-135.
23- Regnault-Roger C., Hamraoui A., Holeman M., Theron E. and Pinel R. 1993. Insecticidal effect of essential oils from Mediterranean plants upon *Acanthoscelides obtectus* (Say) (Coleoptera: Bruchidae) a pest of kidney bean (*Phaseolus vulgaris* L.). Journal of Chemical Ecology 19: 1231-1242.
24- Shahkarami J., Falah Zadeh M., and Almasi S. 2010. Fumigation toxicity and oviposition deterrency of four plant essential oils on cowpea beetle. Plant Protection Journal 2(4): 265 – 276.
25- Singh S.R., Luse R.A., Leuschner K., and Nangju D. 1978. Groundnut oil treatment for the control of *Callosobruchus maculatus* (F.) during cowpea storage. Journal of Stored Products Research 14: 77-80.
26- Sousa A.H., Maracaja P.B., Silva R.M.A., Moura A.M.N., and Andrade W.G. 2005. Bioactive of vegetal powders against *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Bruchidae) in caupi bean and seed physiological analysis. Revista de Biologia e Ciencias da Terra 5(2).
27- Tanzubil P.B. 1991. Control of some insect pests of cowpea (*Vigna unguiculata*) with neem (*Azadirachta indica* A. Juss) in Northern Ghana. Tropical Pest Management 37: 216-217.
28- Tripathi, A.K., Prajapati, V. and Kumar, S. 2003. Bioactivity of l-carvone, d-carvone and dihydrocarvone towards three stored product beetles. Journal of Economic Entomology 96: 1594–1601.
29- Zargari, A. 1996. Medicinal Plants. Tehran University Publication, Tehran, Vol. 3, 6^{th} ed., 538 p.
30- Zettler J.L., and Cuperus G.W. 1990. Pesticide resistance in *Tribolium castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae) and *Rhyzopertha dominica* (Coleoptera: Bostrichidae) in wheat. Journal of Economic Entomology 83: 1677-1681.

Journal of Plant Protection
Vol. 34, No. 2, Summer 2020, P. 195-205

نشریه حفاظت گیاهان (علوم و صنایع کشاورزی)
جلد ۳۴، شماره ۲، تابستان ۱۳۹۹، ص. ۲۰۵-۱۹۵

Fumigant Acute Toxicity of Rosemary and Lavender Essential Oils and a Synergism between them Against Adults of *Callosobruchus maculatus* (Col.: Chrysomelidaed) under Laboratory Conditions

R. Latifizadeh[1]- M. Khanjani[2*]- B. Zahiri[3]
Received: 25-07-2018
Accepted: 24-02-2020

Introduction: Cowpea weevil (*Callosobruchus maculatus*) is one of the key pests in the grain storage warehouses, which feeds on a variety of crops, including cowpea, pea, lentil, mung bean, and bean and causes damage on them. Sometimes this pest could destroy 100% of the stored bean seeds within 5-6 months. Currently, fumigants pesticide are used to control of cowpea weevil. This kind of control method has different adverse effects for consumers and does not provide effective control on the target pest. In order to control this pest in recent years, environmentally friendly pesticides, especially of plant origin are considered by researchers. In this regard, the pesticide effects of the rosemary essential oils (*Rosmarinus officinalis* L.) and lavender (*Lavandula angustifolia* Mill.) and their synergistic effects on the adults of *Callosobruchus maculatus* were studied.

Material and Methods: Bean beetles of this study were provided from Plant, Pest and Disease Research Institute in Karaj and then were transferred to laboratory of entomology of plant protection department of Jahad Keshavazi, Gom, Iran. The provided bean beetles were reared in laboratory condition to get mass production. Bioassay experiments of essential oils were performed with concentrations of 12, 25, 45, 86, 166, and 320 microliters per liter of air on adults of *Callosobruchus maculatus* (1-3 days) in 27±1°C temperature, 65±5% relative humidity and a photoperiod of 16 hours of darkness and 8 hours of light. The experiments were done on a mixture of mung bean and cowpea seeds into 60 ml glass containers in incubators. LC_{50} and LC_{90} index of each of the essential oils were calculated by POLO-PC software and analysis of variance was performed using SAS 9.1 software.

Results: The results indicated rosemary and lavender essential oils had insecticidal effect on the bean beetle and the insect mortality rate increased with increasing concentration. Rosemary essential oil was more toxic than lavender essential oil. The LC50 values of rosemary and lavender were 17.39 and 40.39 microliters per liter of air, respectively. To investigate the interaction effect of these two essential oils, another experiment was performed at previous concentrations in equal proportions (1: 1) of each essential oil and the LC50 value of the mixture was obtained 15.84 microliters per liter of air.

Conclusion: The synergistic ratio (SR) of lavender and rosemary essential oils was the equal to 1.82, which indicates that these essential oils intensify the effect of each other. The mean mortality due to respiratory toxicity of lavender and rosemary and their mixtures were 61.29, 77.38 and 81.58%, respectively.

Keywords: Bioassay, Essential oil, Pest management, Stored product

1, 2 and 3- Former M.Sc. Agricultural Entomology, Professor and Assistant Professor, Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Bu-Ali Sina University, Iran, respectively.
(*- Corresponding Author Email: khanjani@basu.ac.ir)